

Tratamento Pós-colheita de Maçãs com Quitosana para Controle de *Penicillium* sp.

Post-Harvest Treatment of Apples with Chitosan for the Control of Penicillium sp.

BOTELHO, Renato Vasconcelos. Departamento de Agronomia – Unicentro, rbotelho@unicentro.br; MAIA, Aline José. Deagro-Unicentro, alymaia2005@yahoo.com.br; RICKLI, Edinei Hartmann. Deagro-Unicentro, edih2rickli@yahoo.com.br; LEITE, Carla Daiane. Deagro-Unicentro, cdaianeite@hotmail.com; FARIA, Cacilda Márcia Duarte Rios. Deagro-Unicentro, criosfaria@hotmail.com.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da quitosana no crescimento radial *in vitro* de colônias de *Penicillium* sp. e no controle da doença em maçãs por meio de tratamento pós-colheita. As concentrações de quitosana avaliadas foram: 0, 10, 20, 40, 80 e 160 mg L⁻¹, em três épocas de avaliação (2, 4 e 6 dias após a inoculação). No teste *in vitro*, a quitosana foi adicionada ao meio de cultura, posteriormente vertido em placas de Petri, onde o fungo foi inoculado em ponto central, avaliando-se o diâmetro das colônias. O controle da doença em tratamento pós-colheita foi avaliado para as cultivares Princesa e Castel Gala. As maçãs foram mergulhadas por dez segundos em soluções de quitosana e inoculadas com *Penicillium* sp. após 24 horas. No experimento *in vitro*, a quitosana reduziu o diâmetro das colônias do fungo em até 34,2% em relação à testemunha. Nos tratamentos pós-colheita dos frutos, a quitosana reduziu a incidência da doença, porém não apresentou efeito em relação à severidade.

Palavras-chave: Doenças fúngicas, fruticultura de clima temperado, *Malus domestica*, produção orgânica.

Abstract

The objective of this work was to evaluate the effect of chitosan on radial growth of Penicillium sp. colonies in vitro and on the control of decay in apples by post-harvest treatments. The evaluated concentrations of chitosan were: 0, 10, 20, 40, 80 e 160 mg L⁻¹, in three evaluation times (2, 4, 6 days after inoculation). In the in vitro trial, the chitosan was added to the medium and, after that, filled in Petri plates, where the fungus was inoculated in central point, evaluating the colonies diameter. The decay control in post-harvest treatments was evaluated for the apple cultivars Princesa and Castel Gala. The apples were dipped by ten seconds in chitosan solutions and inoculated after 24 h. In the in vitro experiment, chitosan decreased the colonies diameter of the fungus until 34.2% in relation to control. In the post-harvest treatments, chitosan reduced the decay incidence, but it did not show effect in relation to severity.

Keywords: Fungus diseases, temperate zone fruits, *Malus domestica*, organic production.

Introdução

A contaminação de maçãs por *Penicillium* spp. pode ocorrer ainda no campo ou durante o processamento pós-colheita, ocasionando a podridão dos frutos durante o armazenamento, que acarretará em perdas qualitativas e quantitativas. Para o controle dessa podridão, em tratamento pós-colheita, são registrados os fungicidas tiabendazol, iprodione e imazalil. Contudo, devido aos riscos de resíduos pelo uso de agrotóxicos, outras formas de controle de doenças fúngicas necessitam ser avaliadas.

Na busca por métodos alternativos de controle de fungos fitopatogênicos, principalmente para a produção orgânica, um dos produtos que vem sendo pesquisado é a quitosana, um polímero policatiônico β -1,4 ligado à D-glucosamina, polissacarídeo natural extraído da casca ou exoesqueleto de crustáceos como camarão, caranguejo, lagosta, e de plantas como as algas marinhas. OH et al. (1998) sugeriram que a quitosana tem um duplo efeito na interação patógeno-hospedeiro, ou seja, a atividade antifúngica e a ativação das respostas de defesa da planta, como a produção de enzimas.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da quitosana no crescimento radial *in vitro* de colônias de *Penicillium* sp. e no controle da doença em maçãs por meio de tratamento pós-colheita.

Metodologia

Efeito da quitosana no desenvolvimento *in vitro* de *Penicillium* sp.

O crescimento radial da colônia de *Penicillium* sp. foi avaliado em experimento conduzido em condições *in vitro*. Foi avaliado o efeito das concentrações de 0, 10, 20, 40, 80 e 160 mg L⁻¹ de quitosana, utilizando-se o produto comercial Fishfértil Endure, que contém 20 g.L⁻¹ de quitosana. O produto foi adicionado ao meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) fundido (temperatura aproximada de 45°C), e vertido em placas de Petri de 9cm de diâmetro, utilizando-se 15mL por placa. No centro de cada placa foi disposto um disco com 5mm de diâmetro, retirado de culturas com crescimento ativo do isolado de *Penicillium* sp., cultivado em meio BDA sob condições controladas (27 ± 2°C e fotoperíodo de 12 horas), durante seis dias. As placas inoculadas foram então mantidas em a 25 ± 1°C e fotoperíodo de 12 horas, por seis dias. Nesse período, foi mensurado o diâmetro médio das colônias aos 2, 4 e 6 DAI (dias após inoculação).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 6x3 (concentrações x DAI), com quatro repetições, sendo uma placa de Petri por unidade amostral. Os resultados foram submetidos à análise de variância, e quando significativo a 5% de probabilidade, estudou-se o desdobramento dos fatores e regressão polinomial.

Controle pós-colheita de *Penicillium* sp. em maçãs tratadas com quitosana

Foram utilizadas maçãs sadias e de tamanho uniforme das cultivares Princesa e Castel Gala, provenientes do Pomar Experimental da Universidade Estadual do Centro-Oeste (Unicentro), em Guarapuava-PR. Os frutos foram colhidos em 21/01/2008 e armazenados em câmara fria a 4°C por 15 dias. Após este período os frutos foram desinfetados por meio de imersão em solução aquosa de hipoclorito de sódio a 0,1% (v v⁻¹) por 60", seguido da imersão em álcool 70% por 30", enxágue em água destilada e secagem ao ar. Os frutos foram então mergulhados por dez segundos em soluções aquosas contendo 0, 10, 20, 40, 80 e 160 mg.L⁻¹ de quitosana. Após 24 horas, os frutos foram inoculados com um isolado de *Penicillium* sp.. Para isso, foram feitos ferimentos, com o auxílio de uma agulha esterilizada, em dois pontos equidistantes na região equatorial dos frutos, com 0,9 mm de diâmetro e 2 mm de profundidade. Os frutos foram inoculados por aspersão de suspensão na concentração de 10⁶ esporos m.L⁻¹. Realizou-se a avaliação da evolução das lesões, por meio da medição do seu diâmetro com auxílio de um paquímetro digital, aos 2, 4 e 6 DAI. Para determinação da incidência das podridões, foi calculada a porcentagem de lesões que desenvolveram a doença.

Para cada cultivar de maçã o delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 6x3 (concentrações x DAI), com cinco repetições, e parcela experimental constituída por cinco frutos. Os resultados foram submetidos à análise de variância, e quando significativo a 5% de probabilidade, estudou-se o desdobramento dos fatores e regressão

polinomial.

Resultados e discussões

Efeito da quitosana no desenvolvimento *in vitro* de *Penicillium* sp.

A redução linear do crescimento radial da colônia do fungo *Penicillium* sp. ocorreu com o aumento das concentrações de quitosana em todos os períodos avaliados (2, 4 e 6 DAI) (Figura 1). Aos 6 DAI, a redução do crescimento, para a maior concentração de quitosana, foi de 34,2% em relação à testemunha. De forma semelhante, Ait Barka (2004) constataram 44% de inibição de crescimento radial do fungo *Botrytis cinerea*, isolado de uvas cv. Merlot, utilizando o produto comercial Chitogel a base de quitosana. Estes mesmos autores também relataram mudanças morfológicas marcantes e alterações estruturais severas das células do fungo causadas pelo produto.

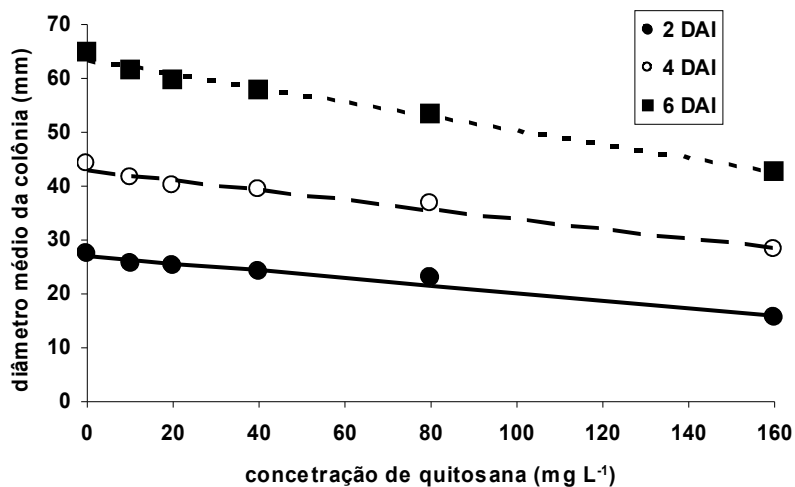


FIGURA 1. Crescimento radial (mm) *in vitro* de colônias de *Penicillium* sp. em meio de cultura com diferentes concentrações de quitosana, em três épocas de avaliação (DAI: dias após a inoculação). (2 DAI: $y=27,0620-0,0688x$, $r^2=96,8^{**}$; 4 DAI: $y=42,8992-0,0906x$, $r^2=97,6^{**}$; 6 DAI: $y=63,3988-0,1300x$, $r^2=98,8^{*}$). ** = significativo a 1%, * = significativo a 5%.

Controle pós-colheita de *Penicillium* sp. em maçãs tratadas com quitosana

Na avaliação aos 2 DAI não se observaram sintomas de podridões em maçãs cv. Princesa. No entanto, houve efeito linear e quadrático das concentrações de quitosana sobre a incidência de *Penicillium* sp., aos 4 e 6 DAI, respectivamente (Figura 2A), demonstrando um efeito inibidor no desenvolvimento deste fungo em maçãs. Em relação às maçãs cv. Castel Gala, a quitosana também teve efeito na redução da incidência de podridões causadas por *Penicillium* sp., com significância para regressão quadrática em função das doses de quitosana em todas as avaliações realizadas. Aos 6 DAI, a incidência de podridões foi de 61,3% no tratamento testemunha e de apenas 14,0% no tratamento com 10 mg.L⁻¹ de quitosana (Figura 2B). No entanto, não houve efeito dos tratamentos no diâmetro das lesões dos frutos afetados, ou seja, a quitosana reduziu a incidência, mas não interferiu na severidade da doença, após a infecção com o fungo *Penicillium* sp.

Para ambas as cultivares de maçãs, apesar da significância das análises de regressões, a incidência de *Penicillium* sp. apresentou redução drástica a partir da concentração de 40 mg.L⁻¹ de quitosana, e similares à incidência observada nas concentrações de 80 e 160 mg.L⁻¹ (Figura 2). De acordo com Benhamou (1996) a aplicação de uma solução de quitosana pode sensibilizar a planta a responder mais rapidamente ao ataque de patógenos pelo estímulo da produção de

Resumos do VI CBA e II CLAA

quitinase e glucanase. Além disso, a quitosana pode formar um filme semipermeável sobre os tecidos vegetais, retardando a senescência de frutos e reduzindo a ocorrência de podridões (EL GHAOUTH et al., 2000).

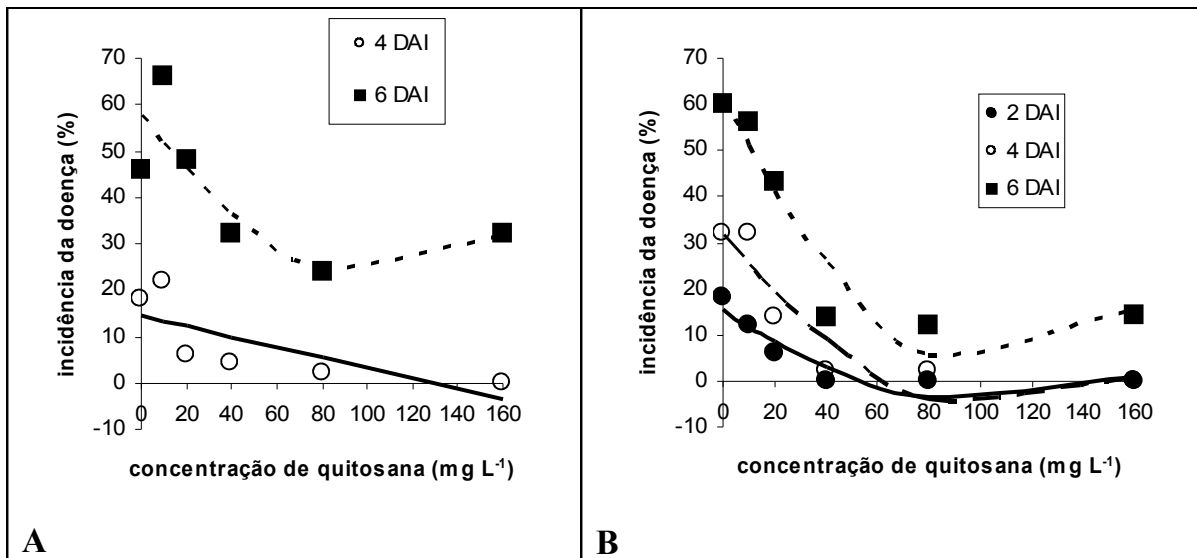


FIGURA 2. Incidência (%) de podridões em maçãs cv. Princesa (A) e cv. Castel Gala (B) inoculadas com o fungo *Penicillium* sp. e tratadas com diferentes concentrações de quitosana, em três épocas de avaliação (DAI: dias após a inoculação). (cv. Princesa: 4 DAI: $y = 14,4571 - 0,1121x$, $r^2 = 54,9\%^{**}$; 6 DAI: $y = 57,6812 - 0,6533x + 0,0031x^2$, $r^2 = 67,5\%^*$) (cv. Castel Gala: 2 DAI: $y = 15,3562 - 0,3768x + 0,0018x^2$, $r^2 = 87,8\%^{**}$; 4 DAI: $y = 31,7375 - 0,6961x + 0,0031x^2$, $r^2 = 86,2\%^{**}$; 6 DAI: $y = 61,3237 - 1,1055x + 0,0051x^2$, $r^2 = 91,9\%^{**}$). ** = significativo a 1%, * = significativo a 5%.

Conclusões

A quitosana apresenta efeito fungistático, inibindo o crescimento radial *in vitro* de colônias do fungo *Penicillium* sp. A quitosana apresenta efeito no controle de podridões pós-colheita em maçãs causadas por *Penicillium* sp., a partir da concentração de 40 mg L⁻¹, podendo ser uma boa alternativa para prevenção destas doenças em sistemas sustentáveis de produção.

Referências

AIT BARKA, E. et al. Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. *Plant Cell Report*, Heidelberg, v. 22, n. 8, p. 608-614, 2004.
BENHAMOU, N. Elicitor-induced plant defense pathways. *Trends in Plant Science*, London, v. 1, n. 7, p. 233-240, 1996.

EL GHAOUTH, A.; SMILANICK, J.L.; WILSON, C.L. Enhancement of the performance of *Candida saitoana* by the addition of glycolchitosan for the control of postharvest decay of apple and citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology*, Oxford, v. 19, n. 1, p. 103-110, 2000.

OH, S.K., CHO, D., YU, S.H. Development of integrated pest management techniques using biomass for organic farming (I). Suppression of late blight and fusarium wilt of tomato by chitosan involving both antifungal and plant activating activities. *Korean Journal of Plant Pathology*, Swon, v. 14, n. 4, p. 278-285, 1998.